

*На правах рукописи*

**Протасова Светлана Владимировна**

**ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ В КОЖЕ И  
ПЕЧЕНИ КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К СТРЕССУ**

03.01.04 – Биохимия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Казань - 2010

Работа выполнена в государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Ижевская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук, профессор  
**Бутолин Евгений Германович**

**Официальные оппоненты:** доктор ветеринарных наук, профессор  
**Хазипов Нариман Залилович**

доктор медицинских наук, профессор  
**Терехина Наталья Александровна**

**Ведущая организация:** Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук

Защита диссертации состоится 23 декабря 2010 г. в 13.00 час. на заседании диссертационного совета Д212.081.08 при Казанском (Приволжском) федеральном университете по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18, главное здание, ауд. 209.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке имени Н.И. Лобачевского Казанского федерального университета.

Автореферат разослан “ 20 ” ноября 2010 г.

Ученый секретарь диссертационного Совета,  
доктор биологических наук



Абрамова З.И.

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

В числе актуальных проблем современной биологии и медицины все большее внимание уделяется проблеме стресса. Такой интерес к изучению этого вопроса обусловлен многими факторами, в числе которых постоянное ускорение темпов жизни, шум, урбанизация, которые, так или иначе, воздействуют на организм человека и животных, провоцируя развитие стресса (К.В. Судаков, 1990; Т.Г. Вознесенская, 2006). Еще более серьезную проблему представляет стремительный рост заболеваемости сахарным диабетом. По данным Всемирной организации здравоохранения в настоящее время в мире насчитывается около 175 млн. больных диабетом. Согласно оценкам экспертов, к 2025 г. прогнозируется, что численность болеющих превысит 300 млн. человек, а к 2030 г. каждый 25-й житель планеты будет болеть данным заболеванием (М.И. Балаболкин, 2007; М.Г. Давыдович и соавт., 2009; E. Adegate et al., 2006). Схожесть биохимических изменений, возникающих в органах и тканях при эмоциональном стрессе и сахарном диабете, позволяет некоторым исследователям рассматривать последний как хронический гипергликемический или метаболический стресс (Е.А. Косенко и соавт., 1999; О.Ю. Жукова, 2008; S.A. Santini, 1997; J. Baynes et al., 1999).

Структурой, пронизывающей все части организма, является соединительная ткань. В различных экспериментальных моделях стресса и диабета показано существенное нарушение в обмене углеводсодержащих биополимеров соединительной ткани в печени, аорте, коже, хряще, стенке желудка (П.Н. Шараев и соавт., 1989; Е.Г. Бутолин и соавт., 1993; Ю.В. Абрамов и соавт., 1999; С.Р. Трофимова, 1999; С.С. Перцов и соавт., 2004; О.В. Перминова, 2007; T.J. Smith, 1984; D. Harman, 1996; Y. Takagi et al., 1997; A. Eddy, 1998; V. Gopalakrishnan et al., 2006), что может лежать в основе морфофункциональных расстройств данных органов.

Исследования последних лет показывают, что в однотипных конфликтных ситуациях отчетливо выявляются животные устойчивые и предрасположенные к эмоциональному стрессу (В.В. Серов и соавт., 1995; В.Г. Шаляпина и соавт., 2006; Г.А. Фролова, 2009), причем изменения морфофункциональной организации соединительной ткани у них выражены неодинаково (В.В. Серов и соавт., 1995; Д.Г. Иванов и соавт., 2010).

Одним из важнейших факторов адаптации к стрессорным ситуациям является активация стресс-лимитирующих структур мозга, усиление синтеза и освобождение веществ нейромедиаторной и нейропептидной природы (А.Н.

Талалаенко и соавт., 1999; М.Г. Пшенникова, 2000; С. Tsigos et al., 2002; Borlongan C.V. et al., 2004), среди которых особый интерес вызывают опиоидные пептиды, в частности, энкефалины, которые обладают наиболее широким спектром физиологического действия (D.J. Carr, 1991; I. Gerendaei, 1991).

В современной научной литературе содержится сравнительное небольшое число исследований, посвященных изучению обмена углеводсодержащих биополимеров при различных стрессогенных состояниях, а вопрос влияния длительного стресса (в том числе и метаболического) на изменение показателей метаболизма биополимеров соединительной ткани у крыс с различной устойчивостью к стрессу остается практически неизученным. Исследование влияния одного из антистрессорных препаратов – аналога лей-энкефалина даларгина – на указанные показатели, измененные в условиях длительного стресса, придает данной работе еще больший интерес.

### **Цель исследования**

Установить особенности обмена гликозаминогликанов в тканях кожи, печени и плазме крови при длительных экспериментальных стрессогенных воздействиях у крыс с различной устойчивостью к стрессу.

### **Задачи исследования**

1. Изучить показатели обмена гликозаминогликанов в коже, печени и плазме крови стресс-устойчивых и стресс-неустойчивых животных в динамике длительного иммобилизационного стресса.
2. Изучить показатели обмена гликозаминогликанов в коже, печени и плазме крови стресс-устойчивых и стресс-неустойчивых животных в динамике метаболического стресса, вызванного введением аллоксана.
3. Выявить особенности в обмене гликозаминогликанов кожи, печени и плазмы крови крыс с различной устойчивостью к стрессу при сочетании длительной иммобилизации с введением даларгина.
4. Выявить особенности в обмене гликозаминогликанов кожи, печени и плазмы крови крыс с различной устойчивостью к стрессу при сочетании аллоксанового диабета с введением даларгина.

### **Научная новизна работы**

В работе впервые получены данные об особенностях обмена гликозаминогликанов и их фракций в коже, печени и плазме крови экспериментальных животных при различных видах длительных стрессогенных воздействий в зависимости от их устойчивости к стрессу.

Выявлен однонаправленный характер изменений в метаболизме гликозаминогликанов у стресс-устойчивых и стресс-неустойчивых крыс при

аллоксановом диабете и длительном иммобилизационном стрессе, характеризующийся в обоих случаях усилением катаболических процессов, наиболее выраженных в коже стресс-устойчивых и в печени стресс-неустойчивых крыс.

Показано, что введение даларгина приводит к ослаблению биохимических нарушений в метаболизме изучаемых углеводсодержащих биополимеров и активации анаболических процессов, наиболее выраженных при экспериментальном аллоксановом диабете в группе стресс-устойчивых животных.

### **Научно-практическая значимость работы**

Полученные в ходе эксперимента данные расширяют представления об особенностях обмена гликозаминогликанов в коже и печени при экспериментальном сахарном диабете и длительной иммобилизации в зависимости от типа реагирования нервной системы на стресс, а также дополняют имеющиеся в литературе сведения, касающиеся влияния опиоидных пептидов на обмен углеводсодержащих биополимеров соединительной ткани.

Полученные нами данные, указывающие на ослабление сдвигов в обмене гликозаминогликанов при введении даларгина, могут быть использованы в клинике с целью возможной фармакологической коррекции метаболических нарушений при стрессогенных воздействиях различного генеза.

Применяемые в работе биохимические методы количественного определения концентрации углеводсодержащих биополимеров в тканях и плазме крови могут быть использованы в эксперименте и клинике, в комплексе с другими методами, для оценки состояния углеводсодержащих биополимеров соединительной ткани.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Многократный иммобилизационный стресс и экспериментальный аллоксановый диабет у животных с различной устойчивостью к стрессу сопровождаются однонаправленными изменениями в обмене гликозаминогликанов кожи и печени, характеризующимися преобладанием катаболических процессов, наиболее выраженных в коже стресс-устойчивых и в печени стресс-неустойчивых крыс.
2. Введение синтетического аналога лей-энкефалина – даларгина при стрессогенных воздействиях различного генеза приводит к усилению анаболических процессов в обмене гликозаминогликанов кожи и печени опытных животных, в особенности при сочетании с экспериментальным диабетом в группе стресс-устойчивых крыс.

### **Апробация работы**

Материалы диссертации доложены на VI Всероссийской конференции с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем» (Санкт-Петербург, 2008); Российской конференции, посвященной 80-летию со дня рождения Р.И. Лифшица «Актуальные проблемы теоретической и прикладной биохимии» (Челябинск, 2009); VII Всероссийской конференции с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем» (Санкт-Петербург, 2009); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Вопросы патогенеза типовых патологических процессов» (Новосибирск, 2009), совместном научном заседании сотрудников кафедр биохимии, нормальной физиологии, патофизиологии, клинической биохимии и лабораторной диагностики (Ижевск, 2010).

### **Внедрение результатов исследования**

Данные о состоянии обмена гликозаминогликанов у крыс с различной устойчивостью к стрессу при многократной иммобилизации, экспериментальном диабете и системном введении даларгина в условиях длительных стрессогенных воздействий включены в лекционные курсы по биохимии, нормальной физиологии, клинической биохимии и лабораторной диагностики для студентов и слушателей факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки, используются в научно-исследовательской работе кафедры биохимии ГОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 12 работ, в том числе 3 в изданиях, рекомендованных ВАК.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация объемом 156 страниц машинописного текста состоит из введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 13 таблицами и 28 рисунками. Список литературы содержит 284 источника (170 на русском и 114 на иностранных языках).

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Эксперименты проведены на 404 взрослых белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г. Животные содержались на обычном рационе вивария со свободным доступом к воде. Всего проведено 5 серий экспериментов. Опыты проводили в осенне-зимний период. Содержание животных и постановка экспериментов проводились в соответствии с требованиями приказа № 267 МЗ РФ от 19.06.2003 г., «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» № 755 от 12.08.1977 г. и положениями Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1996 г.) о гуманном обращении с животными (одобрительная форма комитета по биомедицинской этике от 25.09.2007 г., аппликационный № 153).

С целью прогностической оценки устойчивости животных к стрессогенным воздействиям использовали тест «открытое поле». Индивидуально-топологические характеристики крыс определяли при 1-м тестировании в течение 3 минут. Для вычисления индекса активности животных сумму числа пересеченных периферических и центральных секторов делили на сумму латентных периодов первого движения и выхода в центр открытого поля. В зависимости от исходных параметров поведения в открытом поле крысы были разделены на стресс-устойчивых (индекс активности 2-4) и стресс-неустойчивых (индекс активности 0,4-0,8). Животные с промежуточными значениями индекса активности исключались из дальнейшего эксперимента (Е.В. Коплик, 1995; С.С. Перцов, 2009).

Длительный иммобилизационный стресс у крыс моделировали путем фиксации на спине в течение 2-х часов, ежедневно на протяжении 45 дней (Р.А. Тигранян, 1988). После этого животные находились на обычном рационе вивария до окончания эксперимента. Инсулинзависимый сахарный диабет у крыс вызывали однократным подкожным введением аллоксана тетрагидрата (Fluca Chemica, Швеция) в дозе 170 мг/кг массы тела животного (Н.А. Пальчикова, 1987). Перед инъекцией аллоксана животных не кормили в течение 10 часов.

Для выяснения роли опиоидных пептидов на состояние обмена биополимеров соединительной ткани в условиях аллоксанового диабета и иммобилизационного стресса были проведены эксперименты с внутримышечным введением синтетического аналога лей-энкефалина – даларгина (ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ, Россия), разведенного в стерильном 0,9% растворе хлористого натрия, из расчета 100 мкг/кг массы тела

животного. Инъекции проводили по схеме каждые 72 часа, на протяжении 45 дней (С.Е. Переведенцева, 1997; С.Р. Трофимова, 1999).

Анализ показателей обмена компонентов соединительной ткани проводили в динамике опытов на 10, 20, 30, 45 и 60 дни эксперимента в плазме крови и гомогенатах тканей кожи и печени. В указанные дни животных декапитировали под кратковременным эфирным наркозом. Учитывая циркадные ритмы гормонов, забор материала производили в осенне-зимний период в одно и то же время суток – 12 часов дня (И.И. Дедов, 1992).

Состояние обмена углеводсодержащих биополимеров (УСБ) соединительной ткани в крови, коже и печени изучали по следующим показателям:

- содержание суммарных гликозаминогликанов (ГАГ) по уровню гексуриновых кислот (Л.И. Слуцкий, 1969; в модификации П.Н. Шараева и соавт, 1987);
- содержание сульфатированных и несulfатированных фракций ГАГ (по методу S. Schiller и соавт., 1961; в модификации Л.А. Конновой, 1978);
- уровень гиалуронидазной активности (по методу П.Н. Шараева, 1996);
- количество гексозаминсодержащих биополимеров (по методу L.A. Elson, 1933; в модификации R. Gatt, 1966);
- уровень гексозаминсинтетазной активности (ГАСА) (по методу K. Malathy, 1971; в модификации В.Г. Иванова, 1990);

Содержание ГАГ в крови выражали в мкмольх гексуриновых кислот на 1 л плазмы (мкмоль/л). Исследуемые биополимеры и их фракции в тканях кожи и печени выражали в ммольх гексуриновых кислот на 1 кг сухой обезжиренной ткани (ммоль/кг). Гиалуронидазную активность выражали в микромолях глюкуроновой кислоты на 1 л плазмы крови за 1 ч инкубации (мкмоль/л/ч) или в мкмольх глюкуроновой кислоты на 1 г белка (по Лоури) за 1 ч инкубации (мкмоль/г/ч). Уровень гексозаминсодержащих биополимеров находили по определению входящих в них гексозаминов (ГА). Для крови результаты выражали в ммольх ГА на 1 л плазмы (ммоль/л), для тканей кожи и печени – в ммольх ГА на 1 кг сухой обезжиренной ткани (ммоль/кг). ГАСА находили по разнице концентраций гексозаминов в опытной и контрольной пробах и выражали в мкмоль ГА на 1 л плазмы крови или на 1 г белка (по Лоури) за 1 час инкубации (мкмоль/л/ч или мкмоль/г/ч).

Наряду с определением УСБ соединительной ткани для выполнения поставленных задач и мониторинга гликемии в крови определяли содержание глюкозы (глюкозооксидазный метод, ООО «Витал Диагностикс СПб», Россия), гликированного гемоглобина (Био-ЛА-Тест, PLIVA, Чехия) и 11-оксикортикостероидных гормонов (11-ОКС) (А.Г. Резников, 1980).



Контролем для всех серий опытов служили интактные взрослые крысы-самцы, содержащиеся в обычных условиях вивария в период, соответствующий экспериментам, и животные, которым каждые 72 часа, в течение 45 дней проводились внутримышечные инъекции стерильного 0,9% раствора хлорида натрия.

Результаты исследований, полученные в ходе опытов, обрабатывали с использованием программ Microsoft Excel. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета Statistica 6,0 фирмы StatSoft. В группах выборки оценивали следующие параметры: значения медианы, нижний и верхний квартили. Оценку значимости различий полученных данных ( $p$ ) в сравниваемых выборках осуществляли с использованием критерия (U) Манна–Уитни. Различия между показателями считали статистически значимыми при уровне достоверности  $p < 0,05$ . Коэффициент корреляции ( $r$ ) для пар вариант считали по Спирмену, уровень достоверности принимали равным  $p < 0,01$ .

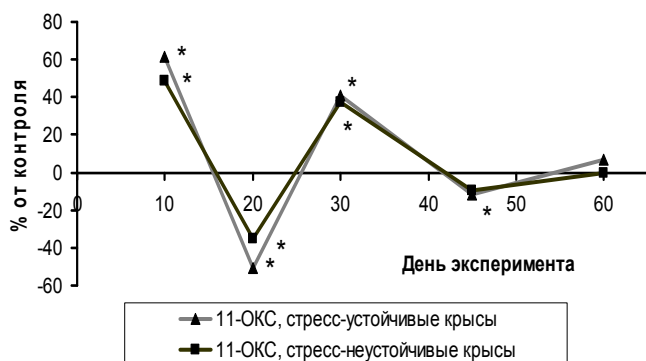
### **Результаты исследования и их обсуждение**

Состояние обмена УСБ в органах и тканях определяется взаимодействием двух противоположных процессов: анаболизма и катаболизма. Преобладание реакций катаболизма в соединительной ткани сопровождается выходом продуктов этих реакций в кровь и характеризуется повышением уровня ГАГ в плазме и гиалуронидазной активности в тканях, в то время как на преобладание анаболических реакций со стороны УСБ указывает рост ГАСА и содержания ГАГ в тканях (В.Г. Иванов, 1990; А.А. Батинов, 2000; О.В. Перминова, 2007; П.Н. Шараев, 2009).

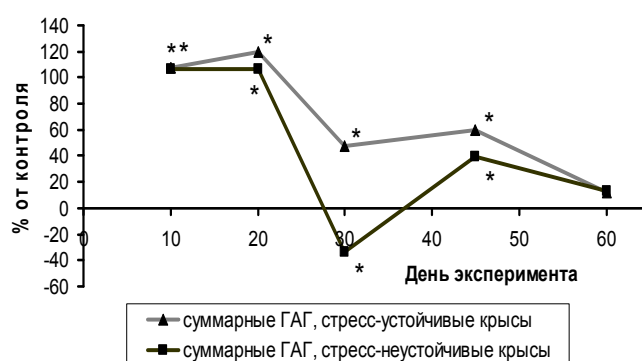
**При экспериментальном иммобилизационном стрессе** концентрация 11-ОКС в крови значительно повышалась на 10 и 30 дни эксперимента в обеих группах животных (рис. 1А), при этом уровень глюкокортикоидов максимально возрастал на 10 день опыта соответственно на 61,5% ( $p=0,0008$ ) для стресс-устойчивых (СУ) и на 49,0% ( $p=0,0008$ ) – для стресс-неустойчивых (СНУ) крыс. На 20 день наблюдения содержание 11-ОКС снижалось относительно контроля на 51,0% и 35,4% ( $p=0,0008$ ) для СУ и СНУ животных соответственно.

Изменения в содержании суммарных ГАГ в крови в опытных группах животных имели сходную динамику (рис. 1Б). Их уровень был повышен на протяжении всего эксперимента, возрастая на 20 и 45 дни исследования. При этом максимальное увеличение концентрации гликозаминогликанов относительно контроля наблюдалось на 20 день опыта как для стресс-

устойчивых (+120,0%;  $p=0,0008$ ), так и для стресс-неустойчивых крыс (+106,7%;  $p=0,0008$ ).



А



Б

Рисунок 1. Изменение уровня 11-оксикортикостероидов (А) и суммарных гликозаминогликанов (Б) в плазме крови животных при иммобилизационном стрессе.

Примечание: здесь и далее \* -  $p<0,05$  при сравнении с контрольной группой.

Содержание суммарных ГАГ и их фракций в гомогенатах кожи и печени было снижено на протяжении всего срока наблюдения в обеих группах животных (табл. 1). При этом в печени исследуемый показатель максимально отклонялся от контрольных значений на 30 день, что сопровождалось значительным возрастанием гиалуронидазной активности к 20 дню исследования в группе стресс-устойчивых крыс (+150,0%;  $p=0,0008$ ) и совпадало с максимумом гиалуронидазной активности у стресс-неустойчивых животных (+56,2%;  $p=0,0008$ ). Во второй половине эксперимента в группах СУ и СНУ крыс уровень ГАГ возрастал, но даже на 60 день опыта оставался ниже контрольных значений соответственно на 49,3% ( $p=0,0011$ ) и на 53,4% ( $p=0,0008$ ). Вместе с этим, как для СУ, так и для СНУ животных отмечалось значительное снижение обеих фракций ГАГ в печени. Наиболее выраженные изменения претерпевали несulfатированные ГАГ, снижаясь на 30 день в группе стресс-устойчивых с 5,6 [3,3;7,4] в контроле до 1,0 [0,9;1,4] ммоль/кг ( $p=0,0008$ ) и на 45 день опыта в группе стресс-неустойчивых с 3,2 [2,5;4,0] в контроле до 0,3 [0,1;0,6] ммоль/кг ( $p=0,0008$ ).

В коже в обеих опытных группах содержание суммарных ГАГ (табл. 1) было минимальным на 20 и 45 дни воздействия соответственно для стресс-неустойчивых крыс (-35,6%;  $p=0,0008$ ) и стресс-устойчивых животных (-36,2%;  $p=0,0008$ ). Пики гиалуронидазной активности на фоне ее общего,

превышающего контрольные показатели, уровня наблюдались на 10 и 30 дни иммобилизации в обеих опытных группах, предшествуя, таким образом, снижению изучаемых биополимеров.

Таблица 1. Содержание гликозаминогликанов и гиалуронидазная активность в печени и коже крыс при иммобилизационном стрессе (n=8)

Показатели	СУ, СНУ	Контроль	Дни эксперимента				
			10	20	30	45	60
Печень							
Суммарные ГАГ, ммоль/кг	СУ	14,3 [11,7;18,0]	5,8 [5,3;6,7]* -59,2%	8,2 [8,0;8,5]* -42,4%	3,9 [3,7;4,8]* -72,6%	5,1 [4,8;5,3]* -64,5%	7,2 [7,0;7,6]* -49,3%
	СНУ	9,8 [8,0;10,6]	5,8 [4,6;6,0]* -40,5%	4,6 [4,3;5,1]* -52,7%	2,5 [2,4;3,1]* -74,3%	3,6 [3,1;4,5]* -63,5%	4,6 [4,0;5,6]* -53,4%
Гиалурони- дазная активность, мкмоль/г/ч	СУ	3,4 [3,4;4,2]	4,2 [2,5;7,6]	8,5 [6,8;9,7]* +150,0%	2,9 [2,5;5,0]	4,8 [3,4;6,7]	9,9 [2,5;14,8]
	СНУ	3,4 [2,5; 4,2]	3,8 [2,9;6,7]	5,5 [2,5;5,9]	5,3 [5,0;5,9]* +56,2%	0,8 [0,8;3,4]*	7,8 [5,5;10,2]*
Кожа							
Суммарные ГАГ, ммоль/кг	СУ	7,1 [6,7;7,4]	5,0 [3,8;7,4]	4,7 [3,7;5,2]* -33,6%	6,6 [6,2;7,1]	4,5 [4,3;5,2]* -36,2%	5,2 [4,9;5,7]* -27,6%
	СНУ	6,4 [6,3;7,4]	4,8 [3,8;5,2]* -24,0%	4,1 [3,6;4,6]* -35,6%	6,3 [5,4;6,5]	4,9 [4,4;5,4]* -22,1%	5,0 [4,7;5,6]* -21,1%
Гиалурони- дазная активность, мкмоль/г/ч	СУ	4,6 [3,4;4,2]	6,7 [4,2;10,3]* +45,8%	5,3 [4,9;5,7]*	18,1 [11,8;19,1]* +295,8%	9,7 [8,7;10,9]*	4,8 [3,8; 5,7]
	СНУ	4,6 [1,5; 5,7]	8,4 [7,6;9,5]* +83,3%	6,1 [3,8;8,4]	11,5 [5,7;22,9]* +150,0%	7,6 [5,7;10,7]*	4,0 [1,9;5,7]

Примечание: медиана [нижний квартиль; верхний квартиль];

\* -  $p < 0,05$  при сравнении с контрольной группой;

+/- % - разница в процентах по отношению к контролю.

Уровень нсГАГ в коже, как и в ткани печени, был снижен относительно контроля на протяжении всего эксперимента, более существенно на 10 день исследования в группе СУ крыс с 3,5 [2,9;4,4] ммоль/кг до 0,5 [0,2;0,6] ммоль/кг (-86,2%;  $p=0,0008$ ) и на 20 день в группе СНУ животных с 3,7 [3,6;4,5] ммоль/кг до 0,3 [0,2;0,4] ммоль/кг (-90,5%;  $p=0,0008$ ). Указанные изменения приводили к перераспределению фракций гликозаминогликанов в пользу сГАГ, наиболее выраженному в коже стресс-неустойчивых крыс на 20 день иммобилизации.

Нами видится взаимосвязь между уровнем глюкокортикоидных гормонов и изменением содержания ГАГ в плазме крови, а также ГАГ и их фракций в коже и печени в обеих группах животных. Так, возрастание концентрации 11-ОКС на 10 и 30 дни эксперимента приводило к снижению содержания исследуемых биополимеров в эти же сроки в печени и на 20 и 45 дни опыта в коже опытных крыс, а также к повышению их уровня в плазме крови на 20 и 45 дни воздействия. Вместе с этим в группе стресс-устойчивых животных на протяжении первых 45 дней иммобилизации отмечалась отрицательная корреляционная связь между содержанием 11-ОКС и уровнем нсГАГ в печени ( $r=-0,640$ ;  $p=0,0001$ ), а также концентрациями 11-ОКС и несulfатированных ГАГ в коже ( $r=-0,680$ ;  $p=0,0001$ ).

Таким образом, при длительном иммобилизационном стрессе в обеих группах крыс наблюдались однонаправленные изменения в обмене гликозаминогликанов, характеризующиеся преобладанием катаболических процессов в первые 30 дней эксперимента. Активация процессов распада биополимеров, вызванная возрастанием уровня глюкокортикоидных гормонов, была более выражена в коже стресс-устойчивых животных и в печени стресс-неустойчивых крыс.

**При аллоксановом диабете** концентрация глюкозы в крови статистически значимо превышала контрольный уровень на протяжении всего эксперимента в обеих опытных группах. Наиболее значительный рост гликемии по отношению к контролю наблюдался на 10 день опыта для СУ животных, с 5,5 [5,2;6,2] до 9,8 [8,7;10,9] ммоль/л ( $p=0,0008$ ) и на 10 и 45 дни воздействия для СНУ крыс, с 6,0 [5,6;6,2] до 8,7 [8,3;10,7] и 9,1 [8,9;9,5] ммоль/л ( $p=0,0008$ ) соответственно. В ответ на увеличение содержания глюкозы в плазме крови в организме развивается неспецифическая реакция, направленная на снижение гипергликемии. Это достигается, в частности, активацией процесса неферментативного гликирования белков (М.И. Балаболкин, 2002; В.И. Один, 2003; D.E. Goldstein et al., 1994). Полученные результаты показали повышение содержания GHb в плазме крови относительно контрольных значений в обеих группах животных, с максимумом на 10 день развития аллоксанового диабета для стресс-устойчивых (+46,4%;  $p=0,0008$ ) и на 20 день – для стресс-неустойчивых крыс (+59,3%;  $p=0,0008$ ). Экспериментально доказано, что нарастание гипергликемии при аллоксановом диабете приводит к резкому и значительному повышению уровня глюкокортикоидов в плазме крови (Н.К. Мазурина, 2007; Н.Л. Колычева, 2008). Так, мы наблюдали возрастание концентрации 11-ОКС в крови на 10 день опыта (рис. 2А) как в группе СУ (+176,7%;  $p=0,0008$ ), так и СНУ животных (+87,4% к контролю;  $p=0,0008$ ).

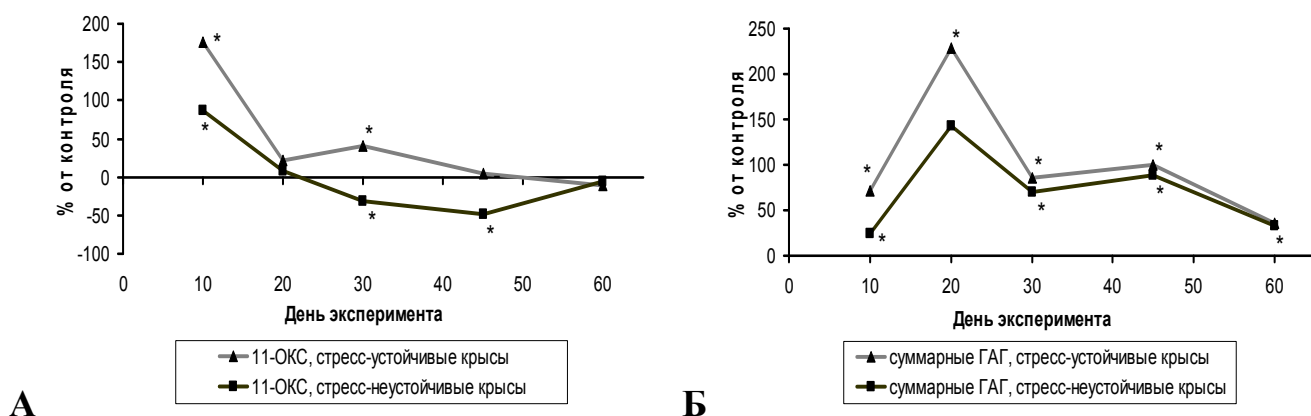


Рисунок 2. Изменение уровня 11-оксикортикостероидов (А) и суммарных гликозаминогликанов (Б) в плазме крови животных при аллоксановом диабете.

Содержание суммарных ГАГ в крови (рис. 2Б) в обеих опытных группах было повышено на протяжении всего эксперимента, с максимальным ростом относительно контроля на 20 день развития диабета на 228,3% ( $p=0,0008$ ) у стресс-устойчивых и на 142,4% ( $p=0,0008$ ) у стресс-неустойчивых животных. При этом отмечалась отрицательная корреляционная связь между концентрациями 11-ОКС и ГАГ в первые 20 дней наблюдения как в группе СУ ( $r=-0,7422$ ;  $p=0,0010$ ), так и в группе СНУ крыс ( $r=-0,7263$ ;  $p=0,0014$ ).

Содержание суммарных ГАГ в печени стресс-неустойчивых животных (табл. 2) снижалось относительно контрольных значений на 10 день исследования (-18,2%;  $p=0,0209$ ), что совпадало с максимумом концентрации 11-ОКС в плазме крови. К 30 дню развития диабета отмечалось возрастание уровня ГАГ как у СУ (+46,8%;  $p=0,0008$ ), так и у СНУ крыс (+61,0%;  $p=0,0028$ ). Параллельно отмечался рост гексозаминсинтетазной активности на 20 день в группе СУ крыс с 19,0 [15,9;22,2] в контроле до 25,4 [25,4;28,6] мкмоль/г/ч ( $p=0,0033$ ) и на 30 день опыта в группе СНУ животных с 15,9 [12,7;22,2] до 27,0 [27,0;33,4] мкмоль/г/ч ( $p=0,0033$ ). Возможно, такая динамика изменений в количестве биополимеров связана с усилением пролиферации фибробластов под действием продуктов перекисного окисления липидов (А.И. Венгеровский и соавт.; 1996), содержание которых в печени возрастает при экспериментальном диабете (Т. Ohkuwa et al., 1995). Необходимо также отметить, что между концентрациями ГАГ и 11-ОКС наблюдалась отрицательная корреляционная связь в течение первых 20 дней воздействия в группе стресс-устойчивых животных ( $r=-0,8024$ ;  $p=0,0002$ ) и 30 дней эксперимента в группе стресс-неустойчивых крыс ( $r=-0,7683$ ;  $p=0,0001$ ).

Таблица 2. Содержание гликозаминогликанов и гиалуронидазная активность в печени и коже крыс при аллоксановом диабете (n=8)

Показатели	СУ, СНУ	Контроль	Дни эксперимента				
			10	20	30	45	60
Печень							
Суммарные ГАГ, ммоль/кг	СУ	14,3 [11,7;18,0]	12,1 [12,0;12,2]	17,3 [17,3;19,3]* +21,1%	21,0 [20,7;21,3]* +46,8%	18,3 [15,0;20,7]* +28,0%	16,7 [15,3;17,0]
	СНУ	10,3 [9,1;12,3]	8,4 [8,3;9,3]* -18,2%	15,6 [14,9;16,0]* +51,9%	16,5 [14,9;16,8]* +61,0%	14,0 [13,9;14,4]* +36,4%	12,8 [12,0;14,4]* +24,7%
Гиалурони- дазная активность, мкмоль/г/ч	СУ	3,8 [3,4;4,2]	2,9 [2,5;4,2]	3,4 [2,9;3,4]	5,5 [3,4;5,9]*	6,9 [4,7;9,3]*	3,4 [2,5; 4,2]
	СНУ	3,4 [2,5;4,2]	4,7 [3,4;8,5]	6,9 [6,8;7,6]*	2,5 [2,1;3,0]	1,7 [1,7;2,5]*	4,2 [3,4;8,5]
Кожа							
Суммарные ГАГ, ммоль/кг	СУ	7,1 [6,9;7,6]	7,5 [7,4;7,5]	5,9 [5,8;6,5]* -17,2%	8,6 [7,6;8,9]* +20,7%	5,0 [4,8;6,7]* -29,6%	6,7 [6,6;7,1]* -6,9%
	СНУ	7,0 [6,3; 7,9]	7,8 [6,4;8,5]	5,8 [5,2;6,2]* -16,7%	7,5 [7,4;8,8]	6,0 [5,5;6,3]* -14,0%	7,0 [6,4;8,0]
Гиалурони- дазная активность, мкмоль/г/ч	СУ	3,6 [3,0;4,6]	7,6 [5,7;11,4]*	4,8 [3,8;6,5]*	2,5 [1,9;3,0]*	3,2 [2,7;3,8]	2,3 [2,3; 5,7]
	СНУ	3,6 [3,1; 3,8]	7,1 [5,7;8,0]*	4,7 [3,8;5,7]*	1,9 [1,1;3,4]*	3,2 [2,7;3,8]	3,4 [3,0;3,8]

Примечание: медиана [нижний квартиль; верхний квартиль];

\* -  $p < 0,05$  при сравнении с контрольной группой;

+/- % - разница в процентах по отношению к контролю.

Уровень сГАГ в печени опытных животных изменялся фазно, возрастая по отношению к контролю на 10 и 30 дни развития диабета. Концентрация нсГАГ снижалась к 10 дню исследования и, наоборот, была повышена в остальные дни эксперимента, максимально возрастая на 20 день опыта с 5,9 [4,5;7,4] в контроле до 13,2 [12,8;13,7] ммоль/кг ( $p=0,0008$ ) в печени стресс-устойчивых и с 4,4 [4,0;5,6] до 11,5 [10,4;12,1] ммоль/кг ( $p=0,0008$ ) в печени стресс-неустойчивых животных. Это не противоречит данным, полученным S. Mohanram и соавт. (1984), которые свидетельствуют, что при аллоксановом диабете в печени наблюдается значительное возрастание количества нсГАГ.

Изменение уровня суммарных ГАГ в коже СУ и СНУ крыс (табл. 2) имело сходную направленность. Статистически значимое снижение концентрации данного показателя отмечалось на 20 и 45 дни развития диабета соответственно на 17,2% ( $p=0,0008$ ) и 29,6% ( $p=0,0008$ ) в группе стресс-устойчивых животных

и на 16,7% ( $p=0,0008$ ) и 14,0% ( $p=0,0016$ ) в группе стресс-неустойчивых крыс. Указанные изменения сопровождались повышением гиалуронидазной активности в первые 20 дней исследования в обеих группах животных. Доказано, что при экспериментальном диабете возрастает количество низкомолекулярных ИФР-связывающих белков, которые, в свою очередь, могут инактивировать ИФР-1 (М. Cechowska-Pasko et al., 1996), что, возможно, приводит к значительному снижению количества ГАГ в коже крыс при экспериментальном диабете (М. Cechowska-Pasko et al., 1996).

Содержание сульфатированных ГАГ в коже в обеих группах животных было повышено относительно контроля на протяжении всего эксперимента. Максимальный рост отмечался на 30 день с 3,3 [2,2;4,4] в контроле до 8,0 [7,8;8,9] ммоль/кг (+141,7%;  $p=0,0008$ ) в группе стресс-устойчивых и с 3,0 [2,7;3,8] до 6,4 [5,5;7,7] ммоль/кг (+109,1%;  $p=0,0008$ ) в группе стресс-неустойчивых крыс. Количество несulfатированных ГАГ, наоборот, было снижено относительно контроля во все сроки исследования. Следовательно, в коже отмечалось перераспределение фракций в пользу сГАГ, что согласуется с данными (Н. Saarni et al., 1978; T.J. Smith, 1984) о значительном снижении синтеза гиалуроновой кислоты фибробластами кожи под действием глюкокортикоидных гормонов.

Таким образом, при аллоксановом диабете в коже и печени опытных крыс наблюдались катаболические процессы в первые 20 дней эксперимента. Начиная с 20 дня развития диабета, усиливались реакции накопления гликозаминогликанов в печени, наиболее выраженные в группе стресс-неустойчивых животных. Данная динамика изменений не противоречит исследованиям С.Е. Переведенцевой (1997), С.Р. Трофимовой (1999), О.В. Перминовой (2007). В коже опытных крыс преимущественно наблюдалось снижение суммарных ГАГ, более выраженное в группе стресс-устойчивых крыс, что, возможно, связано с более высоким уровнем 11-ОКС в плазме крови данной группы животных.

**При введении даларгина на фоне иммобилизационного стресса** мы наблюдали повышение концентрации 11-ОКС крови на всем протяжении опыта в обеих группах животных (рис. 3А), с максимальным ростом относительно контроля на 10 день наблюдения в группе СУ крыс (+67,9%;  $p=0,0008$ ) и на 20 день – в группе СНУ животных (+81,6%;  $p=0,0008$ ). При этом увеличение 11-ОКС при сочетанном воздействии было более выражено, чем в опытах с «изолированной» иммобилизацией. Возможно, это связано с тем, что длительное введение опиоидных пептидов и их аналогов вызывает гипертрофию клеток пучковой зоны надпочечников и активацию синтеза

глюкокортикоидных гормонов, так как опиоидные пептиды обладают независимым от гипофиза трофическим действием на пучковую зону надпочечников крыс (В.Я. Кононенко и соавт., 1989).

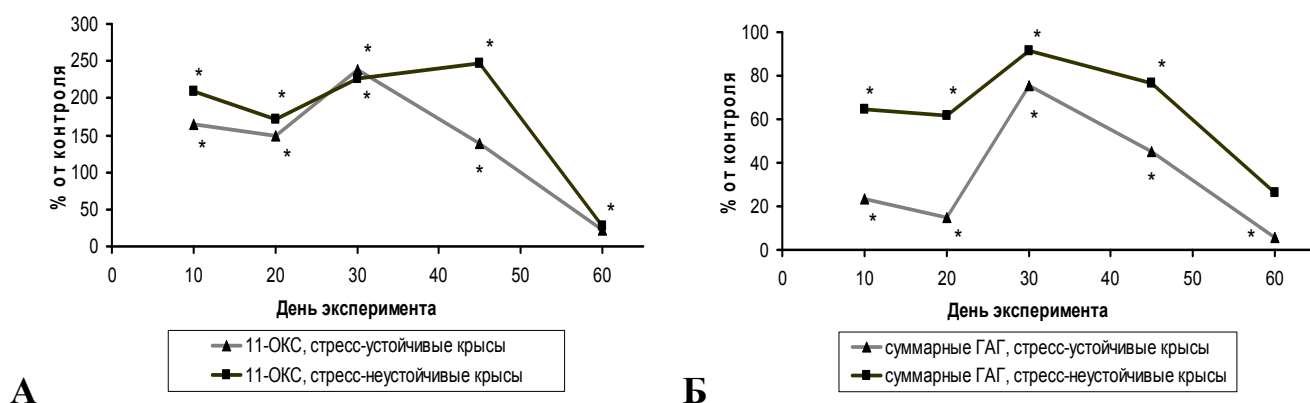


Рисунок 3. Изменение уровня 11-оксикортикостероидов (А) и суммарных гликозаминогликанов (Б) в плазме крови животных при введении даларгина на фоне иммобилизационного стресса.

Вместе с этим уровень ГАГ в плазме крови опытных животных (рис. 3Б) возрастал не так значительно, как при иммобилизации без введения даларгина. Концентрация гликозаминогликанов максимально повышалась на 30 день сочетанного воздействия на 75,4% ( $p=0,0008$ ) в группе стресс-устойчивых и на 91,1% ( $p=0,0008$ ) в группе стресс-неустойчивых крыс.

Содержание суммарных ГАГ в печени и коже (табл. 3) также изменялось менее значительно, чем в опытах без введения даларгина. Так, концентрация данного показателя в печени снижалась на 30 день исследования у стресс-устойчивых (-53,4%;  $p=0,0008$ ) и на 45 день наблюдения у стресс-неустойчивых крыс (-38,9%;  $p=0,0008$ ). При этом отмечалась тесная корреляционная связь между концентрацией ГАГ и уровнем гиалуронидазной активности в первые 30 дней сочетанного воздействия в группе СНУ животных ( $r=-0,780$ ;  $p=0,00001$ ) и на протяжении первых 45 дней эксперимента в группе СУ крыс ( $r=-0,700$ ;  $p=0,00003$ ). В составе фракций наблюдалось снижение нсГАГ на 10 и 30 дни воздействия в печени стресс-устойчивых животных, с 5,6 [4,5;6,9] в контроле до 2,4 [2,1;2,5] и 0,5 [0,1;0,8] ммоль/кг ( $p=0,0008$ ) соответственно, и к 30 дню опыта у стресс-неустойчивых крыс, с 4,4 [3,0;5,0] в контроле до 0,3 [0,2;0,3] ммоль/кг ( $p=0,0008$ ).

Уровень суммарных ГАГ в коже СУ крыс (табл. 3) был снижен по сравнению с контрольными показателями на протяжении 45 дней исследования, более существенно на 10 день опыта (-37,6%;  $p=0,0008$ ), а в коже СНУ животных – до 30 дня введения даларгина на фоне иммобилизации



(-25,0%;  $p=0,0023$ ). Гиалуронидазная активность в группе стресс-устойчивых крыс превышала контрольные значения на 20, 30 и 60 дни наблюдения соответственно на 41,7% ( $p=0,0063$ ), 25,0% ( $p=0,0357$ ) и 50,0% ( $p=0,0008$ ), а в группе стресс-неустойчивых животных – лишь на 30 день воздействия (+100,0%;  $p=0,0008$ ). Содержание нсГАГ в коже снижалось на протяжении первых 45 дней исследования, максимально на 45 день сочетанного воздействия с 3,3 [3,2;4,7] до 0,6 [0,5;0,6] ммоль/кг ( $p=0,0008$ ) у СУ животных и с 3,9 [3,5;4,3] до 0,5 [0,3;0,5] ммоль/кг ( $p=0,0008$ ) у СНУ крыс. Перераспределение фракций в пользу сГАГ отмечалось в первые 30 дней воздействия в печени и на протяжении всего эксперимента в коже.

Таблица 3. Содержание гликозаминогликанов и гиалуронидазная активность в печени и коже крыс при введении даларгина на фоне иммобилизационного стресса (n=8)

Показатели	СУ, СНУ	Контроль	Дни эксперимента				
			10	20	30	45	60
Печень							
Суммарные ГАГ, ммоль/кг	СУ	14,3 [10,7;18,0]	10,7 [10,7;11,7]* -25,5%	13,3 [13,2;13,5]	6,7 [5,7;8,0]* -53,4%	7,3 [6,7;8,0]* -49,0%	15,1 [15,0;15,6]
	СНУ	10,3 [8,0;12,3]	9,3 [9,0;9,9]	8,9 [8,7;9,7]	7,7 [7,0;8,0]* -24,4%	6,3 [5,6;7,5]* -38,9%	11,2 [10,4;13,3]
Гиалурони- дазная активность, мкмоль/г/ч	СУ	3,8 [2,2;4,2]	15,7 [15,3;16,1]*	18,6 [15,2;19,5]*	3,8 [3,4;4,2]	6,8 [5,9;14,4]*	3,8 [2,1; 4,2]
	СНУ	2,9 [2,5; 4,6]	20,3 [19,5;25,4]*	12,7 [4,2;15,3]*	2,5 [2,5;4,2]	6,3 [2,5;6,8]*	3,6 [2,5;4,2]
Кожа							
Суммарные ГАГ, ммоль/кг	СУ	7,1 [7,1;7,6]	4,5 [4,4;4,8]* -37,6%	5,8 [5,4;6,9]* -18,1%	6,3 [5,9;6,4]* -11,0%	6,2 [3,9;7,8]	8,1 [7,4;10,3]* +13,8%
	СНУ	6,9 [6,3;7,6]	6,0 [5,2;6,0]* -12,5%	5,4 [5,2;5,7]* -24,4%	5,2 [4,1;5,5]* -25,0%	6,7 [4,7;9,1]	6,4 [6,0;9,8]
Гиалурони- дазная активность, мкмоль/г/ч	СУ	4,6 [3,4;4,9]	5,7 [3,8;7,6]	6,5 [5,7;24,8]* +41,7%	5,7 [3,8;7,6]* +25,0%	4,6 [3,0;6,1]	6,8 [6,8; 7,6]* +50,0%
	СНУ	5,7 [3,8; 5,7]	6,3 [3,8;13,3]	4,9 [3,8;5,7]	11,5 [11,4;17,2]* +100,0%	7,3 [3,4;11,5]	4,8 [3,8;7,2]

Примечание: медиана [нижний квартиль; верхний квартиль];

\* -  $p<0,05$  при сравнении с контрольной группой;

+/- % - разница в процентах по отношению к контролю.

Таким образом, показатели обмена гликозаминогликанов в коже и печени опытных животных при введении даларгина на фоне иммобилизации изменяются аналогично, но менее значительно, чем в экспериментах без введения даларгина. Возможно, менее выраженный катаболический эффект стрессорных воздействий в исследуемых тканях связан со способностью даларгина снижать связывание глюкокортикоидов с их рецепторами в печени (А.И. Бобков и соавт., 1986), а также угнетать активность аденилатциклазы и предупреждать вызванное катехоламинами повышение уровня цАМФ (Г.К. Золоев и соавт., 1992; С.Р. Мравян, 1993), что ведет к торможению распада биополимеров соединительной ткани (P.R. Sudhakaran, 1980).

**При введении даларгина на фоне аллоксанового диабета** наблюдалось стойкое повышение уровня глюкозы в плазме крови в обеих группах животных. Концентрация глюкозы в группе СУ крыс возрастала к 20 дню исследования с 5,5 [5,2;6,2] в контроле до 8,2 [6,4;9,0] ммоль/л ( $p=0,0033$ ), а в группе СНУ животных к 10 дню опыта с 6,0 [5,6;6,2] в контроле до 8,8 [8,3;9,4] ммоль/л ( $p=0,0008$ ). Содержание GНb в крови СУ крыс значительно отличалось от контроля (5,5 [4,7;6,9] мкмоль фру/г Hb) лишь на 20 день воздействия (+67,3%;  $p=0,0033$ ). В крови СНУ животных GНb был повышен относительно контроля (5,6 [5,1;6,1] мкмоль фру/г Hb) с 20 по 60 дни эксперимента, с максимумом на 45 день опыта (+94,6%;  $p=0,0008$ ). Уровень глюкокортикоидов (рис. 4А) возрастал на 10 день исследования (+26,1%;  $p=0,0357$ ) в группе СУ крыс и на 20 (+68,7%;  $p=0,0008$ ) и 30 (+29,5%;  $p=0,0046$ ) дни сочетанного воздействия в группе СНУ животных. Вероятно, указанные изменения связаны со способностью даларгина модулировать активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (Г.К. Золоев и соавт., 1992; И.Д. Суркина и соавт., 1996).

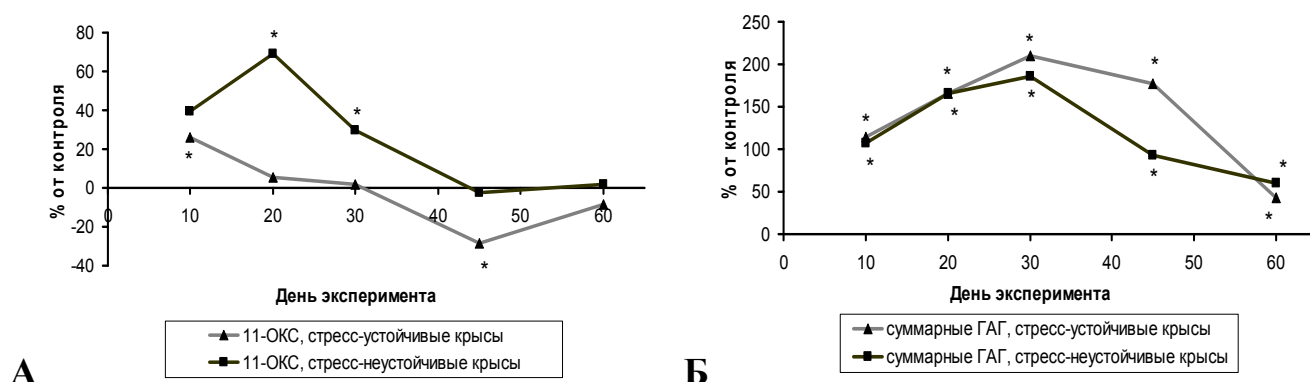


Рисунок 4. Изменение уровня 11-оксикортикостероидов (А) и суммарных гликозаминогликанов (Б) в плазме крови животных при введении даларгина на фоне аллоксанового диабета.

Содержание суммарных ГАГ в плазме крови было повышено на протяжении всего эксперимента (рис. 4Б), максимально возрастая на 30 день опыта как в группе стресс-устойчивых (+210,1%;  $p=0,0008$ ), так и в группе стресс-неустойчивых (+186,2%;  $p=0,0008$ ) крыс.

Таблица 4. Содержание гликозаминогликанов и гиалуронидазная активность в печени и коже крыс при введении даларгина на фоне аллоксанового диабета (n=8)

Показатели	СУ, СНУ	Контроль	Дни эксперимента				
			10	20	30	45	60
Печень							
Суммарные ГАГ, ммоль/кг	СУ	14,3 [11,7;18,0]	21,3 [16,7;22,7]* +48,9%	15,7 [13,3;18,7]	22,0 [17,3;24,0]* +53,7%	27,7 [26,7;28,7]* +93,3%	15,3 [15,0;19,0]* +7,1%
	СНУ	10,2 [9,0; 12,2]	19,5 [16,0;22,6]* +89,3%	9,7 [8,3;10,1]	15,7 [13,1;17,0]* +53,2%	17,2 [16,0;19,2]* +68,6%	18,4 [18,4;21,8]* +79,2%
Гиалурони- дазная активность, мкмоль/г/ч	СУ	3,8 [3,4;4,2]	8,9 [2,5;12,7]	14,8 [12,7;16,9]*	10,2 [10,1;10,2]*	5,9 [3,4;8,5]	4,2 [3,4; 6,0]
	СНУ	3,4 [2,5; 4,2]	11,0 [10,2;11,8]*	11,4 [3,4;19,5]	13,5 [6,8;14,4]*	8,3 [6,8;8,5]*	3,4 [2,5;12,7]
Кожа							
Суммарные ГАГ, ммоль/кг	СУ	7,1 [6,9;7,6]	11,3 [11,1;12,8]* +59,1%	7,1 [5,9;7,9]	12,8 [12,8;13,1]* +79,3%	15,3 [15,0;15,8]* +113,8%	9,7 [9,1;9,8]* +35,3%
	СНУ	7,0 [6,3;7,6]	10,6 [10,4;11,1]* +50,9%	6,0 [4,6;7,4]* -14,0%	12,6 [11,8;13,3]* +78,9%	9,4 [8,9;10,1]* +33,3%	11,1 [10,4;11,8]* +57,9%
Гиалурони- дазная активность, мкмоль/г/ч	СУ	3,6 [3,4;4,6]	8,6 [7,6;19,1]*	5,5 [3,8;19,1]*	2,5 [1,9;3,4]*	3,8 [2,7;7,6]	5,7 [2,3; 5,7]
	СНУ	3,8 [3,0; 5,3]	7,8 [7,6;17,2]*	4,8 [3,8;5,7]	1,9 [1,1;9,5]	3,2 [2,7;3,8]	3,8 [3,0;9,5]

Примечание: медиана [нижний квартиль; верхний квартиль];

\* -  $p<0,05$  при сравнении с контрольной группой;

+/- % - разница в процентах по отношению к контролю.

Концентрация суммарных ГАГ в печени (табл. 4) повышалась на 10 и 45 дни воздействия соответственно на 48,9% ( $p=0,0063$ ) и 93,3% ( $p=0,0008$ ) у СУ животных и на 89,3% ( $p=0,0016$ ) и 68,6% ( $p=0,0008$ ) у СНУ крыс. Возрастание биополимеров происходило за счет несультфатированной фракции. Содержание нсГАГ в ткани печени стресс-устойчивых животных увеличивалось на 10, 30 и 45 дни исследования с 5,4 [3,3;6,9] ммоль/кг в контроле до 12,0 [8,3;12,7], 17,3 [13,4;18,4] и 18,4 [17,8;19,8] ммоль/кг ( $p=0,0008$ ) соответственно. В группе

стресс-неустойчивых крыс уровень несulfатированных ГАГ был повышен на протяжении всего эксперимента, за исключением 20 дня опыта, значительно возрастая на 45 день исследования с 4,0 [3,5;5,6] ммоль/кг (в контроле) до 11,9 [11,0;13,6] ммоль/кг ( $p=0,0008$ ).

В коже наблюдалось возрастание концентрации гликозаминогликанов (табл. 4) в группе СУ животных на 10 и 45 дни воздействия на 59,1% ( $p=0,0008$ ) и 113,8% ( $p=0,0008$ ) соответственно, а в группе СНУ крыс – на 10 и 30 дни опыта на 50,9% ( $p=0,0008$ ) и 78,9% ( $p=0,0008$ ) соответственно. Уровень сГАГ в коже был повышен по сравнению с контролем на протяжении первых 30 дней исследования, с максимальным ростом на 10 день сочетанного воздействия с 3,9 [2,2;3,9] до 10,5 [10,0;10,5] ммоль/кг ( $p=0,0008$ ) в группе стресс-устойчивых животных и с 3,0 [1,6;3,8] до 10,0 [7,7;11,1] ммоль/кг ( $p=0,0008$ ) в группе стресс-неустойчивых крыс. Концентрация нсГАГ в обеих опытных группах снижалась относительно контрольных показателей до 20 дня и возрастала к 45 дню опыта ( $p=0,0008$ ). Следовательно, в первые 30 дней сочетанного воздействия в обеих группах животных наблюдалось перераспределение фракционного состава в пользу сульфатированных ГАГ, а с 45 дня опыта, наоборот, преобладали несulfатированные ГАГ.

Таким образом, введение даларгина на фоне аллоксанового диабета приводит к активации анаболических процессов со стороны гликозаминогликанов, наиболее выраженной в группе стресс-устойчивых животных. Полученные нами данные не противоречат исследованиям С.Е. Переведенцевой (1996) и С.Р. Трофимовой (1999), которые отмечают усиление процессов накопления коллагеновых белков в печени при введении опиоидных пептидов в условиях экспериментального диабета у крыс. Указанные изменения, вероятно, обусловлены способностью даларгина стимулировать пролиферацию фибробластов с увеличением числа митозов, а также их быструю дифференцировку с усилением секреции гликозаминогликанов и коллагена (Л.В. Маслова и соавт., 1991). Вместе с активацией анаболических процессов, даларгин ослабляет действие факторов, приводящих к активации катаболизма. Показано, что он способен снижать усиленные при сахарном диабете процессы перекисного окисления липидов и следующее за ним усиление распада коллагена и ГАГ в печени (С.С. Тимошин и соавт., 1991; Р.Н. Короткина и соавт., 1992). Кроме того, даларгин, путем ингибирования аденилатциклазы, ведет к снижению повышенного уровня цАМФ, который прямо коррелирует со скоростью внутриклеточного распада биополимеров соединительной ткани (Н.Н. Прозоровская и соавт., 1988).

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что при иммобилизационном стрессе и аллоксановом диабете наблюдаются значительные сдвиги в обмене гликозаминогликанов кожи и печени, характеризующиеся снижением количества ГАГ и ростом гиалуронидазной активности, что указывает на усиление катаболических процессов в исследуемых тканях. В то же время применение даларгина нивелирует существенно измененные показатели в обмене ГАГ, полученные в опытах без сочетанного воздействия. Так, введение даларгина на фоне иммобилизационного стресса приводит к менее выраженному снижению уровня ГАГ и их фракций, а в сочетании с аллоксановым диабетом – к накоплению биополимеров в исследуемых тканях.

Необходимо отметить, что указанные изменения протекают одинаково в обеих опытных группах крыс, но при изолированном экспериментальном стрессе и диабете они более существенны в печени стресс-неустойчивых животных и в коже стресс-устойчивых крыс, а при введении даларгина на фоне стрессогенных воздействий – в обеих исследуемых тканях в группе стресс-устойчивых животных.

## **ВЫВОДЫ**

1. Многократный иммобилизационный стресс у стресс-устойчивых и стресс-неустойчивых крыс приводит к увеличению содержания суммарных гликозаминогликанов в плазме крови и снижению их количества в тканях кожи и печени, что указывает на усиление катаболических процессов в исследуемых тканях.
2. Экспериментальный диабет, вызванный введением аллоксана, в группах стресс-устойчивых и стресс-неустойчивых животных сопровождается выраженным гипергликемическим синдромом и приводит к угнетению синтетических процессов в обмене гликозаминогликанов в коже. В печени с 20 дня развития диабета наблюдается накопление изучаемых биополимеров.
3. При изолированном экспериментальном стрессе и диабете изменения показателей обмена гликозаминогликанов одинаковы в группах стресс-устойчивых и стресс-неустойчивых крыс, и более существенны в печени стресс-неустойчивых и в коже стресс-устойчивых животных.
4. При введении даларгина на фоне иммобилизационного стресса и аллоксанового диабета наблюдается ослабление катаболических процессов в обмене гликозаминогликанов кожи и печени, наблюдаемых у животных с

изолированным экспериментальным стрессом и диабетом. Одновременно отмечается накопление гликозаминогликанов в исследуемых тканях.

5. Введение даларгина на фоне длительных стрессогенных воздействий сопровождается однонаправленными изменениями показателей обмена гликозаминогликанов у стресс-устойчивых и стресс-неустойчивых крыс, более выраженными в тканях кожи и печени в группе стресс-устойчивых животных.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Полученные нами данные, указывающие на ослабление сдвигов в обмене гликозаминогликанов при введении даларгина, могут быть использованы в клинике с целью возможной фармакологической коррекции метаболических нарушений при стрессогенных воздействиях различного генеза.

Применяемые в работе биохимические методы количественного определения концентрации гликозаминогликанов в тканях и плазме крови могут быть использованы в эксперименте и клинике в комплексе с другими методами для оценки состояния углеводсодержащих биополимеров соединительной ткани.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Протасова, С.В. Состояние коры надпочечников и обмен гликозаминогликанов печени крыс при длительном иммобилизационном стрессе / С.В. Протасова, Е.Г. Бутолин // **Морфологические ведомости**. – 2008. – № 3-4 – С. 199-200.
2. Протасова, С.В. Влияние аллоксанового диабета на обмен углеводсодержащих биополимеров в печени и слизистой желудка у крыс с различной устойчивостью к стрессу / С.В. Протасова, Е.Г. Бутолин, А.В. Оксюзян // **Сибирский медицинский журнал**. – 2010. – №1. – С. 48-50.
3. Протасова, С.В. Обмен углеводсодержащих биополимеров в печени и слизистой желудка при экспериментальном диабете у крыс с различной устойчивостью к стрессу / С.В. Протасова, Е.Г. Бутолин, А.В. Оксюзян // **Сахарный диабет**. – 2010. – №1. – С. 10-12.
4. Протасова, С.В. Содержание гексозаминов в крови стресс-устойчивых и стресс-неустойчивых крыс при длительной иммобилизации / С.В. Протасова // Материалы V межрегиональной межвузовской научной конференции молодых ученых и студентов. – Ижевск, 2008. – С. 73-75.

5. Протасова, С.В. Показатели обмена углеводсодержащих биополимеров в крови крыс при длительных стрессогенных воздействиях / С.В. Протасова, А.В. Оксужан // Материалы II международной научной конференции молодых ученых-медиков. Том I. – Курск, 2008. – С. 90-92.
6. Протасова, С.В. Обмен гликозаминогликанов в печени стресс-устойчивых и стресс-неустойчивых крыс при длительных стрессогенных воздействиях / С.В. Протасова, Е.Г. Бутолин // Материалы II Международной научно-практической конференции «Постгеномная эра в биологии и проблемы биотехнологии». – Казань, 2008. – С.108-109.
7. Протасова, С.В. Влияние длительной иммобилизации на изменение уровня гексозаминов в коже крыс с различной устойчивостью к стрессу / С.В. Протасова // Материалы VI Всероссийской конференции с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем». – Санкт-Петербург, 2008. – С. 171.
8. Протасова, С.В. Динамика изменений содержания углеводсодержащих биополимеров в крови крыс при длительных стрессогенных воздействиях различного генеза / С.В. Протасова, Е.Г. Бутолин, А.В. Оксужан // Вятский медицинский вестник. – 2008 – №1. – С. 81-83.
9. Протасова, С.В. Гликозаминогликаны кожи при экспериментальном сахарном диабете у крыс с различной устойчивостью к стрессу / С.В. Протасова // Материалы Российской конференции «Актуальные проблемы теоретической и прикладной биохимии». – Челябинск, 2009. – С. 72-73.
10. Протасова, С.В. Уровень гликозаминогликанов в печени крыс с различной устойчивостью к стрессу при введении даларгина на фоне длительной иммобилизации / С.В. Протасова, Е.Г. Бутолин // Материалы VII Всероссийской конференции с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем». – Санкт-Петербург, 2009. – С. 360-361.
11. Протасова, С.В. Содержание гексозаминов в печени крыс с различной устойчивостью к стрессу при экспериментальной диабете / С.В. Протасова // Труды Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Вопросы патогенеза типовых патологических процессов». – Новосибирск, 2009. – С. 302-304.
12. Протасова, С.В. Содержание гликозаминогликанов в крови крыс с различной устойчивостью к стрессу при введении даларгина в условиях экспериментального диабета / С.В. Протасова // Материалы региональной научно-практической конференции «Клиническая биохимия: единство

фундаментальной науки и лабораторной диагностики». – Ижевск, 2010. – С.149-151.

## **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ГА –	гексозамины
ГАСА –	гексозаминсинтетазная активность
ГАГ –	гликозаминогликаны
сГАГ –	сульфатированные гликозаминогликаны
нсГАГ –	несульфатированные гликозаминогликаны
ИФР –	инсулиноподобный фактор роста
СУ –	стресс-устойчивые
СНУ –	стресс-неустойчивые
УСБ –	углеводсодержащие биополимеры
11-ОКС –	11-оксикортикостероиды
GHb –	гликированный гемоглобин